



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 31/60, 31/405, 31/195, 31/19, 31/155	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 97/03678 (43) Date de publication internationale: 6 février 1997 (06.02.97)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/01095 (22) Date de dépôt international: 15 juillet 1996 (15.07.96) (30) Données relatives à la priorité: 9514518.1 15 juillet 1995 (15.07.95) GB (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): SOCIÉTÉ DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.) [FR/FR]; 51/53, rue du Docteur-Blanche, F-75016 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): CHABRIER DE LAS-SAUNIÈRE, Pierre-Etienne [FR/FR]; 75 bis, rue Michel-Ange, F-75016 Paris (FR). BROQUET, Colette [FR/FR]; 240 bis, boulevard Jean-Jaurès, F-92100 Boulogne (FR). (74) Mandataire: BOURGOUIN, André; Société de Conseils Administratifs et Financiers (S.C.A.F.), Service Brevets & Marques, 24, rue Erlanger, F-75781 Paris Cédex 16 (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, brevet ARIPO (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
(54) Title: CYCLO-OXYGENASE INHIBITOR AND AMIDINE DERIVATIVE SALTS, PREPARATION METHOD THEREFOR, USE THEREOF AS DRUGS, AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING SAID SALTS		
(54) Titre: SELS DE DÉRIVÉS D'AMIDINE ET D'INHIBITEUR DE CYCLOOXYGENASE, LEUR PROCÉDE DE PRÉPARATION, LEUR APPLICATION COMME MÉDICAMENTS ET LES COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES LES RENFERMANT		
(57) Abstract		
<p>Cyclo-oxygenase inhibitor and amidine derivative salts, preparation methods therefor, pharmaceutical compositions containing said salts and the use thereof particularly as NO synthase and cyclo-oxygenase inhibitors, are disclosed.</p>		
(57) Abrégé		
<p>La présente invention concerne des sels de dérivés d'amidine et d'inhibiteur de cyclooxygénase, des procédés pour leur préparation, des compositions pharmaceutiques les contenant et leur utilisation notamment en tant qu'inhibiteurs de NO synthase et cyclooxygénase.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

Sels de dérivé d'amidine et d'inhibiteur de cyclooxygénase, leur procédé de préparation, leur application comme médicaments et les compositions pharmaceutiques les renfermant

La présente invention concerne de nouveaux composés présentant une double activité biologique, à savoir qu'ils inhibent à la fois la formation de monoxyde d'azote (NO) et l'activité des cyclooxygénases, un procédé pour leur préparation, des compositions pharmaceutiques les contenant et leur utilisation notamment en tant qu'inhibiteurs de NO synthase et de cyclooxygénase.

Les inhibiteurs de la cyclooxygénase ou des médicaments analogues de l'aspirine, c'est-à-dire l'acide acétylsalicylique et l'acide salicylique, les dérivés de l'indole méthylé, tels que l'indométacine (DCI de l'acide [1-(4-chlorobenzoyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1H-indole-3-yl] acétique et le sulindac (DCI de l'acide [5-fluoro-2-méthyle-1-[[4-(méthylsulfinyle) phényle]-méthylène]-1H-indene-3-yl] acétique, les dérivés des acides N-phénylanthraniliques (méclofénamate, fénamates), les dérivés d'acide propionique tels que l'ibuprofène (DCI de l'acide p-isobutylhydratropique), naproxène, fénoprofène, sont largement employés et ont fait suffisamment leurs preuves comme médicament efficace en thérapie de l'inflammation, avec, cependant, quelques effets secondaires indésirables à des dosages élevés (R. Flower, S. Moncada et J. Vane, Mechanism of action of aspirin-like drugs - In the pharmacological basis of therapeutics Goodman and Gilman, 1985, 29, 674-715). En outre, ces composés ont été utilisés à la fois dans le traitement aigu et prophylactique de la migraine. La valeur de ces médicaments est indéniable, bien que leurs réponses thérapeutiques soient souvent incomplètes et que, chez certains malades, le traitement par de tels composés ne soit pas adapté. En raison de leurs propriétés anti-inflammatoire et anti-agrégante des plaquettes, ces composés ont également été utilisés pour la thrombose et avec une réduction évidente de l'oedème, dans les modèles d'ischémies du cerveau et, par conséquent, sont proposés dans le traitement et la prévention des infarctus, des commotions et des maladies cérébrovasculaires (W. Armstrong Recent trends in research and treatment of stroke, SCRIP, PJB publications, 1991).

L'activité biologique des inhibiteurs de la NO-synthase n'a été découverte que plus récemment et leur usage thérapeutique potentiel est seulement à l'étude. Ces substances, dont les structures sont représentées par des analogues de la L-arginine et décrites dans le brevet danois 3041/90, sont des inhibiteurs de la production d'oxyde nitrique (NO).

Notre connaissance actuelle sur le NO a été révisée en 1991, par Moncada et al, (S. Moncada, R.M.J. Palmer, E.A. Higgs : Nitric oxide : physiology, pathophysiology and pharmacology - Pharmacological reviews 43, 2, 109-142) et plus récemment par Kerwin et al. (Kerwin J., Lancaster J., Feldman P., Nitric oxyde : a new paradigm for second messengers, J. Med. Chem. (1995), vol. 38, 22, 4343-4362). En substance, il apparaît que la NO sert de mécanisme de transduction pour la guanylate cyclase soluble dans les plaquettes, le système nerveux, et de molécule effectrice dans les réactions immunologiques dans beaucoup de cellules et de tissus, y compris les macrophages et les neutrophiles. Le NO est produit enzymatiquement à partir de la L-arginine, par une enzyme appelée NO synthase. Cette enzyme existe sous deux formes : l'une constitutive (endothéliale et neuronale) et l'autre inductible. Dans certaines pathologies, une production excessive de NO peut se produire, comme cela a déjà été démontré au cours d'un choc, et tel que cela a été décrit dans le brevet précédemment cité. Dans ce contexte, les inhibiteurs de la NO synthase sont des médicaments efficaces pour prévenir des conséquences vasculaires et la mortalité causées par une maladie, en particulier lorsqu'ils sont combinés avec les inhibiteurs de la cyclooxygénase comme l'aspirine, l'indométacine ou le méclofénamate.

Les effets bénéfiques de la combinaison de deux principes actifs dans la même molécule, sont susceptibles de se produire pour les patients souffrant d'autres pathologies, comme par exemple :

- les troubles cardiovasculaires et cérébrovasculaires comprenant par exemple l'athérosclérose, la migraine, l'hypertension artérielle, le choc septique, les infarctus cardiaques ou cérébraux d'origine ischémique ou hémorragique, les ischémies et les thromboses ;
- les troubles du système nerveux central ou périphérique comme par exemple les maladies neurodégénératives où l'on peut notamment citer les infarctus cérébraux, les démences séniles, y compris la maladie d'Alzheimer, la chorée de Huntington, la maladie de Parkinson, la maladie de Creutzfeldt Jacob, la sclérose latérale amyotrophique mais aussi la douleur, les traumatismes cérébraux ou de la moëlle épinière, l'addiction aux opiacées, à l'alcool et aux substances induisant une accoutumance, les troubles de l'érection et de la reproduction, les désordres cognitifs, les encéphalopathies ;
- les maladies prolifératives et inflammatoires comme par exemple l'athérosclérose, l'hypertension pulmonaire, la glomérulonéphrite, l'hypertension portale, le psoriasis, l'arthrose et l'arthrite rhumatoïde, les fibroses, les amyloïdoses, les inflammations du système gastrointestinal (colite, maladie de Crohn) ou du système pulmonaire et des voies aériennes (asthme, sinusites) ;
- les transplantations d'organe ;

- les maladies autoimmunes et virales comme par exemple le lupus, le sida, les infections parasitaires et virales, le diabète, la sclérose en plaque ;
- le cancer ; ou
- toutes les pathologies caractérisées par une production ou un dysfonctionnement de NO et/ou des cyclooxygénases.

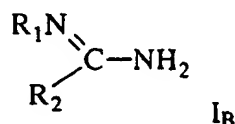
L'invention a ainsi pour objet les produits de formule générale I

A.B (I)

sous forme de sel, dans laquelle

A représente un inhibiteur de cyclooxygénase présentant une fonction carboxy ;

10 B représente un composé de formule générale I_B



dans laquelle

15 R₁ représente H, le radical nitro ou phényle, le radical phényle étant éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur ;

20 R₂ représente un radical alkyle inférieur ; alkylthio inférieur ; alkylthioalkyle ; aryle éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur ; ou amino éventuellement substitué par un radical choisi parmi les radicaux nitro, amino, alkyl inférieur ou phényle, le radical phényle étant lui-même éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur ;

25 et lorsque A représente l'acide acétylsalicylique et R₁ l'atome d'hydrogène, alors R₂ ne représente ni un radical aryle ni un radical phénylamino, le radical phényle étant éventuellement substitué.

Dans les définitions indiquées ci-dessus, le terme halo représente le radical fluoro, chloro, bromo ou iodo, de préférence fluoro ou chloro.

30 L'expression alkyle inférieure représente de préférence un radical alkyle ayant de 1 à 6 atomes de carbone linéaire ou ramifié et en particulier un radical alkyle ayant de 1 à 4 atomes de carbone tels que les radicaux méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, sec-butyle et tert-butyle. Les radicaux alkoxy inférieurs peuvent correspondre

aux radicaux alkyle indiqués ci-dessus. On préfère les radicaux méthoxy, éthoxy ou isopropyloxy.

L'expression aryle représente un radical aromatique, constitué d'un cycle ou de cycles condensés ; chaque cycle peut éventuellement contenir un ou plusieurs hétéroatomes identiques ou différents choisis parmi le soufre, l'azote ou l'oxygène. Des exemples de radical aryle sont les radicaux phényle, naphtyle, thiényle, furyle, pyrrolyle, imidazolyle, pyrazolyle, isothiazolyle, thiazolyle, isoxazolyle, oxazolyle, pyridyle, pyrazinyle, pyrimidyle, benzothiényne, benzofuryle et indolyle.

L'invention a plus particulièrement pour objet les produits de formule générale I telle que définie ci-dessus, caractérisée en ce que le composé A est choisi parmi les salicylates tels que l'acide salicylique et ses dérivés, l'indométacine, le sulindac, les fénamates et les dérivés de l'acide propionique.

Parmi les dérivés de l'acide salicylique, on peut citer les composés obtenus par estérification de la fonction carboxy de l'acide salicylique comme, par exemple, le salicylate de méthyle, les composés obtenus par substitution du radical hydroxy de l'acide salicylique comme, par exemple, l'acide acétylsalicylique ou bien les composés obtenus par l'ajout de substituant(s) sur les sites libres du radical phényle de l'acide salicylique comme, par exemple, le diflunisale. Parmi les fénamates, on peut citer l'acide méfénamique, méclofénamique, flufénamique et tolfénamique. Comme exemples de dérivés de l'acide propionique, on peut citer les composés tels que ibuprofène, naproxène, fénoprophène, fenbufène, flurbiprofène, indoprofène, kétoprofène ou suprofène.

L'invention a particulièrement pour objet les composés de formule générale I telle que décrite ci-dessus, caractérisée en ce que

- A représente l'acide salicylique, le salicylate de méthyle, l'acide acétylsalicylique, l'indométacine, le sulindac, l'acide méfénamique, l'acide méclofénamique ou l'ibuprofène ; et

- B est de formule générale (I_B) telle que définie ci-dessus dans laquelle R_1 représente H, le radical nitro ou phényle, le radical phényle étant éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux chloro, fluoro, cyano, nitro, trifluorométhyle, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy ou isopropyloxy ; et R_2 représente un radical amino ; hydrazino ; nitroamino ; méthylamino ; éthylamino ; méthyle ; éthyle ; méthylthio ; méthylthiométhyle ; phényle éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux chloro, fluoro, cyano, nitro, trifluorométhyle, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy ou isopropyloxy ; thiényne ; furyle ou pyrrolyle.

Plus particulièrement, l'invention a pour objet les produits décrits ci-après dans les exemples, en particulier les produits répondant aux formules suivantes :

- salicylate d'aminoguanidine ;
 - ibuprofénate d'aminoguanidine ;
 - 5 - indométhacinate d'aminoguanidine ;
 - acétylsalicylate de méthylguanidine ;
 - salicylate de méthylguanidine ;
 - ibuprofénate de méthylguanidine ;
 - méfénamate de méthylguanidine.
- 10 L'invention a également pour objet un procédé de préparation des produits de formule générale I telle que définie ci-dessus, caractérisé en ce que l'on fait réagir dans l'eau, à une température comprise entre la température ambiante et 70 °C, un mélange du composé de formule A telle que définie ci-dessus avec un composé de formule B telle définie ci-dessus.
- 15 Lors de la mise en œuvre du procédé, le composé de formule A peut être utilisé tel quel ou sous forme de sel comme, par exemple, le sel de sodium. De même, le composé de formule B peut être utilisé tel quel ou sous une forme comme, par exemple, son bicarbonate ou son hydrochlorure.

Les produits de formule A sont connus ou peuvent être fabriqués par les méthodes
20 connues de l'homme de métier. Les produits de formule B peuvent être obtenus en appliquant les méthodes de préparation d'amidines connues de l'homme de métier (Schwan T.J. et coll., J. Pharm. Sci. (1975), 64, 337-338 ; Roger R et coll., Chem. Rev. 61, 179, (1961) ; Tetrahedron, 29(14), 2147-51 (1973) ; Patai S., Chem. Amidines Imidates, vol.1, 283-348 (1975) ; Patai S., Chem. Amidines Imidates, vol.2,
25 339-366 (1990)).

Les composés de la présente invention possèdent d'intéressantes propriétés pharmacologiques. Ils présentent une double activité biologique, à savoir qu'ils inhibent à la fois le processus de la L-arginine / oxyde nitrique (NO) et le processus de la cyclooxygénase. Les composés de la présente invention peuvent ainsi être utilisés dans
30 différentes applications thérapeutiques.

Compte tenu du rôle potentiel de la NO synthase et de la cyclooxygénase dans la physiopathologie, les composés selon l'invention peuvent produire des effets bénéfiques et favorables dans le traitement des :

- troubles cardiovasculaires et cérébrovasculaires, comprenant, par exemple, les
35 migraines, les congestions cérébrales, les infarctus, les ischémies, les chocs septiques, endotoxiniques et hémorragiques, les douleurs ;

- diverses formes d'inflammation, comprenant, par exemple, les fièvres rhumatismales aiguës, les arthrites rhumatismales ou d'autres types d'arthrites, l'ostéo-arthrite, l'asthme;
- troubles du système immunitaire, comprenant les infections virales ou non virales, les maladies auto-immunes et toutes les pathologies caractérisées par une production excessive d'oxyde nitrique et/ou des métabolites d'acide arachidique.

On trouvera ci-après, dans la partie expérimentale, une illustration des propriétés pharmacologiques des composés de l'invention.

Ces propriétés rendent les produits de formule I aptes à une utilisation pharmaceutique. La présente demande a également pour objet, à titre de médicaments, les produits de formule I telle que définie ci-dessus ainsi que les compositions pharmaceutiques contenant, à titre de principe actif, l'un au moins des médicaments tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne ainsi des compositions pharmaceutiques contenant un composé de l'invention, en association avec un support pharmaceutiquement acceptable. La composition pharmaceutique peut être sous forme d'un solide, par exemple, des poudres, des granules, des comprimés, des gélules ou des suppositoires. Les supports solides appropriés peuvent être, par exemple, le phosphate de calcium, le stéarate de magnésium, le talc, les sucres, le lactose, la dextrine, l'amidon, la gélatine, la cellulose, la cellulose de méthyle, la cellulose carboxyméthyle de sodium, la polyvinylpyrrolidone et la cire.

Les compositions pharmaceutiques contenant un composé de l'invention peuvent aussi se présenter sous forme liquide, par exemple, des solutions, des émulsions, des suspensions ou des sirops. Les supports liquides appropriés peuvent être, par exemple, l'eau, les solvants organiques tels que le glycérol ou les glycols, de même que leurs mélanges, dans des proportions variées, dans l'eau, additionnés à des huiles ou des graisses pharmaceutiquement acceptables. Les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être administrées selon les modes d'administration classique telle administration orale ou par injection intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse ou sous-cutanée.

L'invention a également pour objet l'utilisation des produits de formule I telle que définie ci-dessus, pour la préparation de médicaments destinés à traiter les troubles cardiovasculaires et cérébrovasculaires, de médicaments destinés à traiter diverses formes d'inflammation, de médicaments destinés à traiter les troubles du système immunitaire.

Les exemples suivants sont présentés pour illustrer les procédures ci-dessus et ne doivent en aucun cas être considérés comme une limite à la portée de l'invention.

PARTIE EXPÉRIMENTALE :**Exemple 1 :** salicylate d'aminoguanidine

On dissout, en chauffant vers 70 °C, 420 mg (2,5 mmol) d'aminoguanidine bicarbonate dans 25 ml d'eau, puis on rajoute en agitant une solution aqueuse de 400 mg de salicylate de sodium. On chauffe le mélange pendant 20 minutes puis on lyophilise (poudre blanche ; p.f. = 148° C).

Exemple 2 : ibuprofénate d'aminoguanidine

On dissout, en chauffant vers 70 °C, 420 mg (2,5 mmol) d'aminoguanidine bicarbonate dans 25 ml d'eau. On rajoute une solution aqueuse de 570 mg de sel de sodium d'ibuprofène. On prolonge le chauffage pendant 20 minutes puis on lyophilise (poudre blanche ; p.f. = 134° C).

Exemple 3 : indométhacinate d'aminoguanidine

On procède comme décrit dans l'exemple 1, mais en utilisant de l'indométhacine à la place du salicylate de sodium (poudre jaune ; p.f. = 196° C).

Exemple 4 : acétylsalicylate de méthylguanidine

On dissout 450 mg (2,5 mmol) d'acide acétylsalicylique dans 20 ml d'eau contenant 2,5 ml de NaOH 1 N. On rajoute, ensuite, 237,8 mg de chlorhydrate de méthylguanidine dans 10 ml d'eau. On poursuit l'agitation pendant 15 minutes. On obtient une solution limpide. La lyophilisation fournit une poudre blanche (p.f. = 153° C).

RMN-¹H (100 MHz, D₂O) : 7,3-6,6 (m, 4H, aromatique) ; 2,3 (s, 3H, NCH₃) ; 1,8 (s, 3H, COCH₃).

Exemple 5 : salicylate de méthylguanidine

On dissout, à chaud, 345 mg (2,5 mmol) d'acide salicylique dans 20 ml d'eau contenant 2,5 ml de NaOH 1 N. On rajoute une solution de chlorhydrate de méthylguanidine (2,5 mmol) dans 10 ml d'eau. On poursuit l'agitation à 40 °C pendant 10 minutes. La lyophilisation fournit une poudre blanche très volumineuse (p.f. = 140° C).

~~RMN-¹H (100 MHz, D₂O) : 7-6,8 (m, 4H, aromatique) ; 2,4 (s, 3H, NCH₃).~~

Exemple 6 : ibuprofénate de méthylguanidine

On dissout, à chaud, 2,5 mmol d'ibuprofen dans 20 ml d'eau contenant 2,5 ml de NaOH 1 N. On rajoute une solution de chlorhydrate de méthylguanidine (2,5 mmol)

dans 10 ml d'eau. On chauffe en agitant à 60 °C pendant 15 minutes. La lyophilisation fournit une poudre blanche (p.f. = 174° C).

- ¹H-NMR (100 MHz, D₂O) : 7,2 (s, 4H, aromatique) ; 3,4 (q, 1H, C₆H₅-CH(Me)-CO) ; 2,6 (s, 3H, NCH₃) ; 2,25 (d, 2H, CH₂C₆H₆) ; 1,6 (m, 1H, CH(CH₃)₂) ; 1,2 (d, 3H, -CH(CH₃)-CO₂H) ; 0,8 (d, 6H, 2CH₃).

Exemple 7 : méfénamate de méthylguanidine

On procède comme décrit dans l'exemple 6, mais en utilisant l'acide méfénamique à la place de l'ibuprofène. Au refroidissement, le composé précipite. On filtre et sèche le produit (p.f. = 124° C).

- ¹H-NMR (100 MHz, D₂O) : 8,1 (m, 1H, H en o de CO₂H) ; 7,2-6,8 (m, 6H, 2C₆H₆) ; 2,9 (s, 3H, NCH₃) ; 2,4 et 2,3 (d, 2CH₃C₆H₆).

En utilisant le procédé indiqué ci-dessus, on peut également préparer les produits suivants, qui font également partie de l'invention et qui constituent des produits préférés :

Tableau 1

Composé	A	B	
		R ₁	R ₂
C	acide salicylique	nitro	hydrazino
D	acide salicylique	H	méthylamino
E	acide salicylique	2-fluorophényle	amino
F	acide acétylsalicylique	4-méthoxyphényle	éthyle
G	acide acétylsalicylique	nitro	éthoxy
H	salicylate de méthyle	3-chlorophényle	méthyle
I	salicylate de méthyle	H	hydrazino
J	indométacine	3,4-dichlorophényle	propyle
K	indométacine	4-méthylphényle	hydrazino
L	indométacine	H	méthylamino
M	indométacine	nitro	éthylamino
N	indométacine	nitro	3-chlorophényle
O	sulindac	3-cyanophényle	amino
P	sulindac	H	méthylamino
Q	sulindac	H	hydrazino
R	acide méfénamique	H	amino
S	acide méfénamique	H	thiényle
T	acide méfénamique	nitro	hydrazino

Tableau 1 (suite)

U	acide méclofénamique	nitro	amino
V	acide méclofénamique	3-trifluorophényle	isopropyloxy
W	ibuprofène	H	méthylthiométhyle
X	ibuprofène	nitro	méthyle
Y	ibuprofène	nitro	furyle

Etude pharmacologique des produits de l'invention

Les composés de l'invention ont été soumis à des tests biologiques *in vitro*, afin de prouver leur activité à bloquer la NO synthase inducible et la cyclooxygénase. Ils ont été comparés à des substances de références telles que l'aminoguanidine, la L-nitroarginine, l'ibuprofène, l'indométacine, l'acide acétylsalicylique.

1) Effet *in vitro* sur la NO synthase inducible de macrophages murins J774A1 :

Le test consiste à mesurer la transformation par la NO synthase de la L-arginine en L-citrulline d'après la méthode de Bredt et Snyder (Proceedings of the National Academy of Sciences USA 87, 682-685, 1990). Les macrophages murins J774A1 produisent une grande quantité de NO après activation par les lipopolysaccharides (LPS) et l'interféron- γ (IFN- γ). Les cellules sont cultivées dans du milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) enrichi avec 10 % de sérum de veau fœtal à 37° C sous une atmosphère de 5 % de CO₂ après activation par le LPS et l'IFN- γ . Elles sontensemencées à raison de 5000 cellules/cm² dans des flacons de 150 cm². Les incubations se font en présence de LPS (1 μ g/ml) et d'IFN- γ murin (50 U/ml) dans du DMEM enrichi avec 10 % de sérum de veau fœtal. La NO synthase est isolée avec un tampon d'extraction (HEPES 50 mM, pH 7,4, dithiothréitol 0,5 mM, pepstatin A 1 mg/ml, leupeptine 1 mg/ml, inhibiteur de trypsine de soja 1 mg/ml, antipain 1 mg/ml et PMSF 10 mg/ml). Après sonication dans le tampon d'extraction à 4° C, les homogénats sont ultra-centrifugés (100 000 g à 4° C pendant 1 heure).

Le dosage se fait dans des tubes à essai en verre dans lesquels sont distribués 100 μ l de tampon d'incubation contenant 100 mM d'HEPES, pH 7,4, 1 mM de dithiothréitol, 2,5 mM de CaCl₂, 10 μ M de tétrahydrobioptérine, FAD 10 μ M, BSA 1 mg/ml, 2 mM de NADPH réduit, 2 mM d'EDTA et 2,5 mM de CaCl₂. On ajoute 25 μ l d'une solution contenant 100 nM d'arginine tritiée (activité spécifique : 56,4 Ci/mmmole, Amersham) et 40 μ M d'arginine non radioactive. La réaction est initiée en ajoutant 50 μ l d'homogénat, le volume final étant de 200 μ l (les 25 μ l manquants sont soit de l'eau, soit le produit testé). Après 15 minutes, la réaction est stoppée avec 2 ml de tampon d'arrêt (20 mM d'HEPES, pH 5,5, 2 mM d'EDTA). Après passage des échantillons

sur une colonne de 1 ml de résine DOWEX, la radioactivité est quantifiée par un spectromètre à scintillation liquide.

Les résultats sont exprimés en valeur de CI_{50} et sont résumés dans le tableau du paragraphe 2 (première colonne de résultats intitulée "NO synthase inductible, formation de citrulline").

2) Effet *in vitro* sur la production de nitrites par les macrophages murins J774A1 :

Ce test est utilisé pour mesurer l'activité inhibitrice des produits sur la NO synthase inductible de cellules en cultures. Les cellules sont cultivées dans du milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) enrichi avec 10 % de sérum de veau fœtal à 37° C sous une atmosphère de 5 % de CO_2 . Pour les expériences, elles sont réparties en plaques 96 puits (50 000 cellules par puits) et incubées dans du DMEM sans rouge de phénol à 10 % de sérum de veau fœtal avec du LPS (1 $\mu g/ml$) et de l'IFN- γ murin (50 U/ml) en présence ou en l'absence des produits à tester. Après 48 heures, la concentration de nitrites dans les milieux de culture, produits de dégradation du NO, est mesurée par une méthode colorimétrique selon Green et al, Analytical Biochemistry 126, 131-138 (1982). Les résultats sont exprimés en valeur de CI_{50} et sont résumés dans le tableau du paragraphe 2 (deuxième colonne de résultats intitulée "NO synthase inductible, formation de nitrites").

Produits	CI_{50} (μM)	
	NO synthase inductible (formation de citrulline)	NO synthase inductible (formation de nitrites)
Aminoguanidine	20	22
L-nitroarginine	21	100
Ibuprofène	inactif	inactif
Indométacine	inactif	inactif
Exemple 2	11	16
Exemple 3	26	33

3) Effet *in vitro* sur la production de nitrites et de PGE2 par des cellules microgliales de rat :

Les cellules microgliales sont isolées à partir de cultures de cellules gliales provenant de cortex de rat Wistar nouveau-né d'après le protocole de Théry et coll. (1991). Les cellules microgliales sontensemencées dans des plaques 24 puits à raison de 5.10^5 cellules par ml et 0,5 ml par puits. Les cellules microgliales sont incubées en présence de LPS

(10 µg/ml) et des inhibiteurs pendant 24 heures à 37° C sous une atmosphère à 5 % de CO₂. Après 24 heures, les surnageants sont prélevés afin de mesurer les concentrations de nitrites et de PGE₂. La PGE₂ est dosée à l'aide d'un dosage radioimmunologique commercialisé par NEN selon le mode opératoire décrit par le fabricant. Chaque échantillon est dosé en duplicat. Les résultats sont exprimés sous forme de CI₅₀ calculées à l'aide d'une régression linéaire sur la partie linéaire de la courbe d'inhibition (logiciel FigP6C). Les nitrites sont dosés selon la méthode de Green et al (Analytical Biochemistry 126, 131-138, 1982). Les résultats sont exprimés sous forme de CI₅₀ et sont indiqués dans le tableau ci-dessous pour l'exemple 2.

Produit	Production de nitrites CI ₅₀ (µM)	Production de PGE ₂ CI ₅₀ (µM)
Exemple 2	97 ± 35	3,1 ± 1,9
Aminoguanidine	109 ± 44	inactif
Ibuprofène	inactif	1,3 ± 0,22

4) Effet *in vitro* sur la cyclooxygénase inducible :

La cyclooxygénase existe sous deux isoformes, la COX-1 (constitutive) et la COX-2 induite par les agents inflammatoires mitogènes, cytokines et endotoxines. Les composés ont été testés sur l'activité enzymatique des deux isoformes semi-purifiées.

Le principe du test est de quantifier la transformation de l'acide arachidonique (AA) en PGE₂ par la COX-1 ou la COX-2. La méthode est inspirée de Futaki et al. (Prostaglandins, 47, 55-59, 1994). La COX-1 (Prostaglandine H synthase-1, EC 1.14.9.1) est conservée à -80° C et provient de vésicule séminale de bélier. La COX-2 (Prostaglandine H synthase-2) est aussi conservée à -80° C et provient de placenta de brebis.

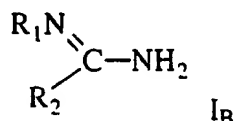
Les tubes sont remplis avec 500 µl de tampon (100 mM de Tris HCl, pH 8, 1 µM d'hématine, 1 mM de phénol) et les composés de l'invention ou les substances de référence à des concentrations allant de 1 nM à 1 mM. Les témoins sont du tampon sans inhibiteurs. Après 2 minutes d'incubation avec 5 U (COX-2) ou 10 U (COX-1) d'enzyme, 5 µl d'acide arachidonique à 10 µM sont ajoutés pour 2 minutes. La réaction est arrêtée avec 30 µl d'HCl à 1N. L'extraction se fait sur des colonnes Seppack C18 (Waters). Après évaporation à sec, la PGE₂ est mesurée par dosage radioimmunologique à partir d'une trousse commerciale. Les résultats sont exprimés en valeur de CI₅₀ et sont résumés dans le tableau ci-dessous.

CI ₅₀ (μM)		
Produits	COX-1	COX-2
Acide acétylsalicylique	77,8	648
Acide salicylique	> 1000	> 1000
Acide méfénamique	83,9	388
Ibuprofène	> 1000	> 1000
Indométacine	0,54	15,9
Aminoguanidine	> 1000	> 1000
L-nitroarginine	> 1000	> 1000
Exemple 2	459	525
Exemple 3	0,108	29,4
Exemple 4	243	> 1000
exemple 5	> 1000	> 1000
Exemple 6	> 1000	> 1000
Exemple 7	411	331

REVENDICATIONS**1. Les composés de formule générale I :****A.B (I)**

sous forme de sel, dans laquelle

5 A représente un inhibiteur de cyclooxygénase présentant une fonction carboxy ;

B représente un composé de formule générale I_B

dans laquelle

10 R₁ représente H, le radical nitro ou phényle, le radical phényle étant éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur ;

15 R₂ représente un radical alkyle inférieur ; alkylthio inférieur ; alkylthioalkyle ; aryle éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur ; ou amino éventuellement substitué par un radical choisi parmi les radicaux nitro, amino, alkyl inférieur ou phényle, le radical phényle étant lui-même éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux halo, cyano, nitro, trifluorométhyle, alkyle inférieur ou alkoxy inférieur,

20 et lorsque A représente l'acide acétylsalicylique et R₁ l'atome d'hydrogène, alors R₂ ne représente ni un radical aryle ni un radical phénylamino, le radical phényle étant éventuellement substitué.

2. Les composés de formule générale I telle que définie à la revendication 1, caractérisée en ce que le composé A est choisi parmi les salicylates, l'indométacine, le sulindac, les fénamates et les dérivés de l'acide propionique.

3. Les composés de formule générale I telle que définie à l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que

- A représente l'acide salicylique, le salicylate de méthyle, l'acide acétylsalicylique, l'indométacine, le sulindac, l'acide méfénamique, l'acide méclofénamique ou l'ibuprofène ; et

- B est de formule générale (I_B) telle que définie à la revendication 1 dans laquelle R₁ représente H, le radical nitro ou phényle, le radical phényle étant éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux chloro, fluoro, cyano, nitro, trifluorométhyle, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy ou isopropyloxy ; et R₂ représente un radical amino ; hydrazino ; nitroamino ; méthylamino ; éthylamino ; méthyle ; éthyle ; méthylthio ; méthylthiométhyl ; phényle éventuellement substitué par un ou plusieurs substituants choisis parmi les radicaux chloro, fluoro, cyano, nitro, trifluorométhyle, méthyle, éthyle, méthoxy, éthoxy ou isopropyloxy ; thiényle ; furyle ou pyrrolyle.

4. Les composés de formule générale I telle que définie à l'une des revendications 1 à 3 et répondant aux formules suivantes :

- salicylate d'aminoguanidine ;
- ibuprofénate d'aminoguanidine ;
- indométhacinate d'aminoguanidine ;
- acétylsalicylate de méthylguanidine ;
- salicylate de méthylguanidine ;
- ibuprofénate de méthylguanidine ;
- méfénamate de méthylguanidine.

5. Procédé de préparation des produits de formule générale I telle que définie à la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait réagir dans l'eau, à une température comprise entre la température ambiante et 70 °C, un mélange du composé de formule A telle que définie à la revendication 1 avec un composé de formule B telle définie à la revendication 1.

6. A titre de médicaments, les produits de formule I telle que définie à la revendication 1.

7. A titre de médicaments, les produits de formule I telle que définie à l'une des revendications 2 à 4.

8. Compositions pharmaceutiques contenant, à titre de principe actif, l'un au moins des médicaments tels que définis à l'une des revendications 6 ou 7.

- 5 9.-Utilisation des produits de formule I telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 4 pour la préparation de médicaments destinés à traiter les troubles cardiovasculaires et cérébrovasculaires, comprenant, par exemple, les migraines, les congestions cérébrales, les infarctus, les ischémies, les chocs septiques, endotoxiniques et hémorragiques, les douleurs.
10. Utilisation des produits de formule I telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 4 pour la préparation de médicaments destinés à traiter les diverses formes d'inflammation comprenant les fièvres rhumatismales aiguës, les arthrites rhumatismales ou d'autres types d'arthrites, l'ostéo-arthrite, l'asthme.
- 10 11. Utilisation des produits de formule I telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 4 pour la préparation de médicaments destinés à traiter les troubles du système immunitaire, comprenant les infections virales ou non virales, les maladies auto-immunes et toutes les pathologies caractérisées par une production excessive d'oxyde nitrique et/ou des métabolites d'acide arachidique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No
PCT/FR 96/01095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/60 A61K31/405 A61K31/195 A61K31/19 A61K31/155

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US,A,4 324 801 (MATSUZAKI MEIKI ET AL) 13 April 1982 see abstract	1-11
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 010, no. 339 (C-385), 15 November 1986 & JP,A,61 143320 (BANYU PHARMACEUT CO LTD), 1 July 1986, see abstract	1-11
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 006, no. 024 (C-091), 12 February 1982 & JP,A,56 147761 (BANYU PHARMACEUT CO LTD), 16 November 1981, see abstract --- -/-	1-11



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 December 1996

Date of mailing of the international search report

17.12.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Leherte, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No
PCT/FR 96/01095

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB,A,2 263 111 (SCRAS) 14 July 1993 see claims -----	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 96/ 01095

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claims 1-3 and 5-10 concern a method for treatment of the human or animal body, the search has been carried out, based on the alleged effects of the product or compound.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No
PCT/FR 96/01095

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4324801	13-04-82	NONE	

GB-A-2263111	14-07-93	AT-B- 401054	25-06-96
		AT-A- 256092	15-10-95
		AU-B- 664399	16-11-95
		AU-A- 3049892	08-07-93
		BE-A- 1006227	14-06-94
		CA-A- 2085555	05-07-93
		CH-A- 685629	31-08-95
		DE-A- 4244539	08-07-93
		ES-A- 2052452	01-07-94
		FR-A- 2685869	09-07-93
		FR-A- 2685916	09-07-93
		GR-B- 1001443	30-12-93
		HK-A- 22296	16-02-96
		IT-B- 1256761	15-12-95
		JP-A- 5286916	02-11-93
		LU-A- 88208	15-04-93
		NL-A- 9300001	02-08-93
		NZ-A- 245499	26-07-95
		PL-B- 169432	31-07-96
		PT-A- 101165	28-02-94
		SE-A- 9203825	05-07-93
		US-A- 5360925	01-11-94
		US-A- 5480999	02-01-96
		ZA-A- 9210080	02-08-93

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ande Internationale No

PCT/FR 96/01095

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K31/60 A61K31/405 A61K31/195 A61K31/19 A61K31/155

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US,A,4 324 801 (MATSUZAKI MEIKI ET AL) 13 Avril 1982 voir abrégé	1-11
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 010, no. 339 (C-385), 15 Novembre 1986 & JP,A,61 143320 (BANYU PHARMACEUT CO LTD), 1 Juillet 1986, voir abrégé	1-11
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 006, no. 024 (C-091), 12 Février 1982 & JP,A,56 147761 (BANYU PHARMACEUT CO LTD), 16 Novembre 1981, voir abrégé --- -/-	1-11

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

5 Décembre 1996

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

17/12/96

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Leherte, C

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ande Internationale No
PCT/FR 96/01095

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	GB,A,2 263 111 (SCRAS) 14 Juillet 1993 voir revendications -----	1-11

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR 96/01095

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☒ Les revendications n°
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
Remarque: Bien que la(les) revendication(s) 1-3, 5-10
concerne(nt) une méthode de traitement du corps humain/animal,
la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés
au produit/à la composition.
2. ☐ Les revendications n°
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour
qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n°
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la
troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche
internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier
justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent
rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir
les revendications n°:
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport
de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est
couvertes par les revendications n°:

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ande Internationale No

PCT/FR 96/01095

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US-A-4324801	13-04-82	AUCUN	
GB-A-2263111	14-07-93	AT-B- 401054	25-06-96
		AT-A- 256092	15-10-95
		AU-B- 664399	16-11-95
		AU-A- 3049892	08-07-93
		BE-A- 1006227	14-06-94
		CA-A- 2085555	05-07-93
		CH-A- 685629	31-08-95
		DE-A- 4244539	08-07-93
		ES-A- 2052452	01-07-94
		FR-A- 2685869	09-07-93
		FR-A- 2685916	09-07-93
		GR-B- 1001443	30-12-93
		HK-A- 22296	16-02-96
		IT-B- 1256761	15-12-95
		JP-A- 5286916	02-11-93
		LU-A- 88208	15-04-93
		NL-A- 9300001	02-08-93
		NZ-A- 245499	26-07-95
		PL-B- 169432	31-07-96
		PT-A- 101165	28-02-94
		SE-A- 9203825	05-07-93
		US-A- 5360925	01-11-94
		US-A- 5480999	02-01-96
		ZA-A- 9210080	02-08-93